

PCT/JP00/03806  
12.06.00  
10/009962

日本国特許庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

RECD 27 JUL 2000  
WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application: 1999年 6月14日

出願番号

Application Number: 平成11年特許願第167439号

出願人

Applicant(s): 科学技術振興事業団

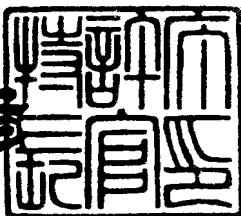
PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 6月29日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3054070

【書類名】 特許願  
【整理番号】 NP99211-YS  
【特記事項】 特許法第30条第1項の規定の適用を受けようとする特許出願  
【提出日】 平成11年 6月14日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 C07H 21/00  
C07K 14/415  
【発明の名称】 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質  
【請求項の数】 6  
【発明者】  
【住所又は居所】 岩手県盛岡市緑が丘1-17-7  
エステート緑が丘207  
【氏名】 伊藤 菊一  
【特許出願人】  
【識別番号】 396020800  
【氏名又は名称】 科学技術振興事業団  
【代理人】  
【識別番号】 100093230  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 西澤 利夫  
【電話番号】 03-5454-7191  
【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 009911  
【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 図面 1  
【物件名】 要約書 1

特平11-167439

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、そのcDNAが配列番号1の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCP<sub>a</sub>。

【請求項2】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、そのcDNAが配列番号3の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCP<sub>b</sub>。

【請求項3】 請求項1の遺伝子SfUCP<sub>a</sub>が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号2のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCP<sub>A</sub>。

【請求項4】 請求項2の遺伝子SfUCP<sub>b</sub>が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号4のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCP<sub>B</sub>。

【請求項5】 配列番号1の塩基配列またはその一部配列を有するDNA断片。

【請求項6】 配列番号3の塩基配列またはその一部配列を有するDNA断片。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この出願の発明は、植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質に関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、低温耐性植物の開発等の植物育種分野、糖尿病や肥満等の治療に関する医学分野、植物由来の新規発熱素材開発等の工学分野において有用なザゼンソウ (*Symplocarpus foetidus*) 由来の発熱関連遺伝子とこの遺伝子の発現産物である発熱関連タンパク質に関するものである。

【0002】

【従来の技術とその課題】

低温、乾燥および塩ストレスは、陸棲植物が遭遇する共通の有害な環境因子で

ある。これらのストレスのうち、低温傷害および凍結傷害を引き起こす低温は作物の生産性を制限する最も重要な因子であると考えられている (Levitt, 1980)。これらの低温ストレスに対処するために、コムギやライムギのような耐冷植物は低温馴化を導く多くの生理学的応答および代謝応答を行う (Sakai and Larcher, 1987; Steponkus, 1984; Thomashow, 1998; Uemura and Steponkus, 1997)。対照的に、ザゼンソウを含むいくつかの植物は熱発生によって冷却化を回避する特殊化された機構を有していることが知られている (Knutson, 1974; Nagy et al., 1972; Schneider and Buchenau, 1980)。

#### 【0003】

早春に咲くザゼンソウの肉穂花序 (spadix) における花の温度は、大気温度が-15°Cに低下する場合であっても+10°Cよりも高いままである (Knutson, 1974)。例えば、図1は、屋外で採取したザゼンソウを人工気象室内に移し、部屋の温度を低下させた際の肉穂花序の温度を赤外線カメラで測定した結果である。この図1からも明らかなように、ザゼンソウの肉穂花序の温度は気温が低下してもほぼ19°Cを保っている。

#### 【0004】

このような温度維持は、12°Cから氷点下の温度レベルに呼吸速度を倍増することによって達成されている。熱発生植物によって生成される熱は植物のミトコンドリアに特有の経路、すなわち代替オキシダーゼ (AOX) によって調節されるミトコンドリアのシアノ化物非感受性・非リン酸化電子輸送経路の活性増加に関連すると考えられてきた (Berthold and Siedow, 1993; Ito et al., 1997; McIntosh, 1994; Wangner and Krab, 1995)。

#### 【0005】

一方、哺乳動物においては、脱共役タンパク質 (uncoupling protein: UCP) と呼ばれるミトコンドリアタンパク質が熱産生において重要な役割を果たすことが示されてきた。ミトコンドリアの内膜において見出されるUCPsは、膜内にH<sup>+</sup>を流入させることによって、化学エネルギーを代謝熱へと散逸させるATP合成から呼吸を脱共役する (Klaus et al., 1991; Klingenberg and Winkler, 1985; Ricquier et al., 1991)。動物においては、3つのUCPが見出され

ている。UCP1は主として褐色脂肪組織に分布し (Nichollus and Locke, 1984) 、UCP2は多くの組織において偏在的に見出され (Fleury et al., 1997) 、UCP3は骨格筋に極めて特異的である (Boss et al., 1997) 。

#### 【0006】

哺乳動物UCPsは、ミトコンドリアの他のキャリアタンパク質と同様に、6つの膜貫通セグメントから構成され、その疎水性部分は対合した両親媒性 $\alpha$ -ヘリックス構造に由来すると考えられている (Liu et al., 1988; Maia et al., 1998)。さらに、これらのUCPsの活性は、プリンヌクレオチド (ATP、GTP、GDPおよびADP) をC末端領域に結合することによって低下し、遊離脂肪酸によって増加することも知られている (Jezek et al., 1998; Lin and Klingenberg, 1982; Katiyar and Shrager, 1989; Rial et al., 1983; Sluse et al., 1998)。

#### 【0007】

これに対して、近年、植物由来のUCP様タンパク質をコードする2つのcDNAが、ジャガイモ (StUCP: Laloi et al., 1997) およびシロイヌナズナ (AtPUMP: Maia et al., 1998) から単離された。StUCPの発現は主として花および果実において検出されたため、AOXと共に、開花および果実熟成において激発する呼吸に関連し得ると仮定されている (Laloi et al., 1997)。

#### 【0008】

ジャガイモおよびシロイヌナズナは非熱発生植物であると考えられているが、StUCPおよびAtPUMPの低温誘導性発現は、これらの遺伝子が熱発生に関与していることを示唆する (Laloi et al., 1997; Maia et al., 1998)。

しかしながら、ザゼンソウのような熱発生植物において、UCP様タンパク質が媒介する熱生成の分子機構は全く同定されていない。

#### 【0009】

##### 【発明が解決しようとする課題】

この出願の発明は、これまでに同定されていない熱発生植物ザゼンソウ由來の新規UCP遺伝子を提供することを課題としている。

またこの出願は、この新規遺伝子の発現産物であるザゼンソウUCPを提供することを課題としてもいる。

【0010】

【課題を解決するための手段】

この出願は、前記の課題を解決するための発明として、ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、cDNAが配列番号1の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCP<sub>a</sub>と、cDNAが配列番号3の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCP<sub>b</sub>を提供する。

【0011】

またこの出願は、前記の遺伝子SfUCP<sub>a</sub>が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号2のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCPAと、前記の遺伝子SfUCP<sub>b</sub>が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号4のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCPBをそれぞれ提供する。

【0012】

さらにこの出願は、配列番号1の塩基配列またはその一部配列を有するDNA断片と、配列番号3の塩基配列またはその一部配列を有するcNA断片とをそれぞれ提供する。

すなわち、この発明の遺伝子SfUCP<sub>a</sub>は、そのcDNAが配列番号1の塩基配列を有しており、このcDNAが配列番号2のアミノ酸配列を有する推定分子量32.6kDaのタンパク質SfUCPAをコードしている。また、この発明の遺伝子SfUCP<sub>b</sub>のcDNA（配列番号3）は、配列番号4のアミノ酸配列を有する推定分子量29.0kDaのタンパク質SfUCPBをコードしている。

【0013】

この発明の遺伝子SfUCP<sub>a</sub>およびSfUCP<sub>b</sub>は、低温時に肉穂花序特異的に発現するザゼンソウ遺伝子である。すなわち、公知の方法（Ito et al., 1999）により抽出したザゼンソウ全RNAについてノーザンプロットティング（Ito et al., 1994）を行った結果、図2に示したように、室温（15°C）において両遺伝子とも肉穂花序での発現が検出されたが、葉では検出されないことが確認されて

いる。また、肉穂花序に特異的な両遺伝子の発現は、低温処理（4℃、3日間）によって誘導されることも確認されている。

#### 【0014】

この出願の遺伝子がそれぞれに発現するタンパク質SfUCPAおよびSfUCPBのアミノ酸配列は、ホモロジー検索の結果、ヒトUCPに対してよりも、植物UCPに対してより高い相同意を示す（図3）。すなわち、SfUCPAのアミノ酸配列は、StUCP、AtPUMP、ヒトUCP、UCP2およびUCP3に対して、それぞれ、79%、75%、44%、48%および48%同一である。SfUCPBはStUCP、AtPUMP、ヒトUCP、UCP2およびUCP3に対して、それぞれ、71%、66%、41%、43%および44%同一である。

#### 【0015】

また、SfUCPAおよびSfUCPBは互いに高い配列同一性（88%）を示すが、図3に示したように、SfUCPAの第204番目Thrと第238番目Valとの間のアミノ酸配列に対応する領域が、SfUCPBにおいては完全に欠失している。さらに、SfUCPAの第265番目のLeuは、SfUCPBではProに置換されている。

#### 【0016】

SfUCPAは、他のミトコンドリアUCPタンパク質と同様の構造を有している。すなわち、SfUCPAは、図4に疎水性プロットを示したとおりに6カ所の膜貫通ドメインを有し、そのトポロジーは図5に示したとおりである。加えて、このSfUCPAはミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質に特徴的なドメイン（Boss et al., 1997; Maia et al., 1998）を3カ所に有している（図3）。一方、SfUCPBは、3番目のミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質特徴的ドメインを欠損しているとともに（図3）、5番目の膜貫通ドメインが欠失しており（図3および図6）、そのトポロジーはC末端がミトコンドリアのマトリックス側に向いている（図7）。

#### 【0017】

いずれのタンパク質もC末端にプリンヌクレオチド結合ドメイン（PNBD）を有しているが（図3、図5および図7）、UCPはプリンヌクレオチドの結合

によりミトコンドリア内膜における脱共役機能が抑制されることが知られている。しかし、SfUCPbはC末端がミトコンドリアのマトリックス側に向いていることから、プリンヌクレオチドの結合による活性抑制を免れている可能性がある。このようなトポロジーを有するUCPは動物、植物を問わず従来全く知られていない。

#### 【0018】

この出願によって提供されるザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子SfUCAおよびSfUCPbは、例えば、遺伝子組換え技術を用いた低温耐性植物の開発に極めて有用である。また、この遺伝子の発現産物であるタンパク質SfUCPAおよびSfUCPBは、ATP合成に対する脱共役機能により、糖尿病や肥満等の治療薬の有効成分等として期待される。さらには、このような発熱関連タンパク質は植物由来の新規発熱素材としても有望である。

#### 【0019】

以下、各発明の実施の形態をさらに詳しく説明する。

#### 【0020】

##### 【発明の実施の形態】

この発明の遺伝子SfUCPaおよびSfUCPbは、各々、この発明の各cDNA（配列番号1または3）もしくはそれらの一部配列をプローブとして、ザゼンソウのゲノムDNAから単離することができる。例えば、ゲノムDNAから公知の方法によりゲノムライブラリーを作成し、cDNAの任意部分の塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドをプローブとして、公知の方法によりコロニーあるいはプラークハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。あるいは、染色体に対するin situハイブリダイゼーションによって目的の遺伝子領域を同定することもできる。

#### 【0021】

この発明の各cDNAは、例えば、ザゼンソウのポリ(A)<sup>+</sup>RNAを鑄型として合成したcDNAライブラリーからクローニングすることができる。その場合には、この発明によって提供されるcDNAの任意部分のオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いて、公知の方法によりコロニーあるいはプラーク

ハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。また、目的とする cDNA 断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、ザゼンソウ細胞から単離した mRNA から RT-P CR 法により、この発明の cDNA を調製することもできる。

【0022】

なお、一般に真核細胞の遺伝子は多型が頻繁に認められる。従って配列番号 1 および 3 において、1 または複数個のヌクレオチドの付加、欠失および／または他のヌクレオチドによる置換がなされている cDNA もこの発明の cDNA に含まれる。同様に、これらの塩基の変更によって生じる 1 または複数個のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換がなされているタンパク質もこの発明に含まれる。

【0023】

この発明の cDNA には、配列番号 1 および 3 の塩基配列のいかなる部分配列を含む DNA 断片 (10 bp 以上) も含まれる。また、センス鎖およびアンチセンス鎖からなる DNA 断片も含まれる。

この発明のタンパク質 SfUCPA および SfUCPB は、それぞれ公知の方法、すなわちザゼンソウの肉穂花序などから単離する方法、この出願によって提供されるアミノ酸配列に基づいて化学合成によりペプチドを調製する方法、あるいはこの出願によって提供される cDNA を用いて組換え DNA 技術で生産する方法などにより取得することができる。例えば、組換え DNA 技術によってタンパク質を取得する場合には、この発明の cDNA を保有するベクターからインビトロ転写によって RNA を調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことにより、タンパク質を得ることができる。また cDNA の翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換え、この組換えベクターで大腸菌、枯草菌、酵母、動植物細胞等を形質転換すれば、これらの形質転換体でタンパク質を大量に発現させることができる。

【0024】

この発明のタンパク質をインビトロ翻訳で生産させる場合には、RNA ポリメラーゼプロモーターを有するベクターにこの発明の cDNA の翻訳領域を組換え

、プロモーターに対応するRNAポリメラーゼを含むウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加すればよい。RNAポリメラーゼプロモーターとしては、T7、T3、SP6などが例示できる。

#### 【0025】

また、この発明のタンパク質を大腸菌などの微生物で発現させる場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、cDNAクローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、この発明のcDNAの翻訳領域を組換えて発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すればよい。この際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンを付加すれば、任意の領域を含むタンパク質断片を得ることができる。あるいは、他のタンパク質との融合タンパク質として発現させ、この融合タンパク質を適当なプロテアーゼで切断することによって目的とするタンパク質のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC系、pBluescript II、pET発現システム、pGEX発現システムなどが例示できる。

#### 【0026】

この発明のタンパク質を真核細胞で発現させる場合には、この発明のcDNAの翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに組換え、真核細胞内に導入する。発現ベクターとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBVベクター、pRS、pYES2などが例示できる。真核細胞としては、サル腎臓細胞COS7、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHOなどの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、分裂酵母、カイコ細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、これらに限定されるものではない。発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リボソーム法、DEAEデキストラン法など公知の方法を用いることができる。

#### 【0027】

上記の方法により原核細胞や真核細胞でタンパク質を発現させたのち、培養物から目的タンパク質を単離精製するためには、公知の分離操作を組み合わせて行

う。例えば、尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電気泳動、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティーコロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー等である。

## 【0028】

この発明のタンパク質SfUCPAおよびSfUCPBには、配列番号2および4のアミノ酸配列におけるいかなる部分配列を含むペプチド断片（5アミノ酸残基以上）も含まれる。また、この発明のタンパク質には、他の任意のタンパク質との融合タンパク質も含まれる。

## 【0029】

## 【実施例】

以下、実施例を示してこの出願の発明についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。

## 実施例1：cDNAのクローニング

ザゼンソウの肉穂花序から全RNAを抽出し、1.0%アガロースゲル電気泳動によって完全なRNAを決定した（Ito et al., 1999）。mRNA単離キット（Pharmacia）を用いて精製したポリ(A)<sup>+</sup>RNAから、RT-PCR法によりUCP遺伝子ファミリーの関連クローンを単離した。第1鎖cDNAは、ポリ(A)<sup>+</sup>RNA（0.1μg）に20pmolのcDNAプライム化プライマー（5'-TTTTTTTTTTTTTTTT-3'）をアニールし、次いで10ユニットの逆転写酵素（New England Biolab）を使用して、37℃で30分間、10mM 1, 4-ジチオトレイトールおよび0.5mM dNTPを含有する20μlの1×RT緩衝液中で伸長した。反応溶液の組成は以下のとおりである。

## 【0030】

- ・ 10mM Tris-HCl (pH8.0) ;
- ・ 50mM KCl ;
- ・ 1.5mM MgCl<sub>2</sub> ;
- ・ 4mM dNTP ;
- ・ 0.2ユニットのEX Taqポリメラーゼ（Takara）；および

・ U C P ファミリーの保存されたアミノ酸配列に対応する10pmolの2つの縮重プライマー：

Z F 1 (5'-CCIYTIGAYACIGCIAAR-3') ;

Z R 1 (5'-ACWTTCCAISYICCIAWIC-3')

また、 P C R サイクルは以下のとおりとした。

#### 【0031】

(94°C : 0.5分間、 50°C : 1分間、 72°C : 1分間) × 35

以上の方針により得た P C R 産物のうち、 約0.8kbの c D N A フラグメントの配列から推定されるアミノ酸配列は、 U C P 遺伝子群の1つのリーディングフレーム配列と極めて高い相同意を示したので、 このフラグメントを T-ベクターにクローニングし (クローンp2-1) 、 ライブラリースクリーニングのためのプローブとした。

#### 【0032】

肉穂花序から調製したポリ(A)<sup>+</sup> R N A (5 μg) を公知の方法 (Sambrook et al., 1989) によって λgt11 ファージに挿入し、 c D N A ライブラリーを構築した。このライブラリーから前記プローブに対するポジティブクローン8個を単離し、 pBluescript SKプラスミド (Stratagene) にサブクローニングした。そして、これらのクローンから、 完全長の S f U C P a c D N A および S f U C P b c D N A をそれぞれ保有するクローン p z 8-1 および p z 8-2 を得た。

#### 【0033】

なお、 各クローンのインサートは、 BcaBest 配列決定キット (Takara) ならびに T3、 T7 および 遺伝子特異的プライマーを用い、 ABI373A 自動化シーケンサーにより配列決定した。配列データを、 GENETYX-Homology ソフトウェアシステム・バージョン2.2.0 (Software Development) を使用して解析した。

S f U C P a の c D N A は、 配列番号1に示した1,525bpの塩基配列を有しており、 S f U C P の c D N A は配列番号3に示した2,991bpの塩基配列を有していた。推定のポリアデニル化シグナル (aataaa) は、 S f U C P a の c D N A ではポリ(A)配列から236bp上流で見出されたが、 S f U C P b の c D N A では1,171bpおよび1,243bpの位置に2つのポリアデニル化部位が認められた。 S f U C P a に比

較して SfUCPb の cDNA が長い 3' 非翻訳領域を含むという事実は注目に値する。

#### 【0034】

また、 SfUCPa の cDNA は、配列番号 1 に示したように、 303 アミノ酸をコードするオープンリーディングフレーム (ORF) を含んでおり、この ORF には配列番号 2 に示したアミノ酸配列を有する推定分子量 32.6kDa のタンパク質 SfUCPA がコードされていた。一方、 SfUCPb の cDNA は、配列番号 3 に示したように、 268 アミノ酸の ORF を含んでおり、この ORF には推定分子量 29.0kDa のタンパク質 SfUCPB がコードされていた。

#### 【0035】

さらに、サザンブロット分析の結果から、ザゼンソウのゲノムは SfUCPa 遺伝子を複数コピー、 SfUCPb 遺伝子を單一コピー含んでいることが確認された（データ示さず）。

#### 実施例 2 : cDNA のインビトロ翻訳

実施例 1 で得たプラスミドクローン pZ8-1 および pZ8-2 を直線化し、 T7 RNA ポリメラーゼまたは T3 RNA ポリメラーゼを使用して、 MAXICRIP T 転写キット (Ambion) のプロトコルに従い、センスまたはアンチセンス RNA を転写した。等量の RNA (4 μg) を <sup>35</sup>S-メチオニン (Amersham) の存在下でコムギ胚抽出物 (Promega) を用いたインビトロ翻訳反応に供した。翻訳産物は SDS-PAGE で分析した。ゲルを固定し、 Amplify (Amersham) 中でインキユベートした後に乾燥し、蛍光分析した。

#### 【0036】

その結果、図 8 に示したように、いずれの cDNA ともセンス RNA を鑄型とした時にのみ予想された分子量のタンパク質が産生されることから、実施例 1 で単離した cDNA の開始コドンおよび終始コドンが正しく機能していることが確認された。

#### 【0037】

##### 【発明の効果】

以上詳しく述べたとおり、この出願によって、熱発生植物であるザゼンソウ

由来の新規発熱関連遺伝子 SfUCP a および SfUCP b、並びにこれらの遺伝子産物である発熱関連タンパク質 SfUCP A および SfUCP B、さらにはこれらのタンパク質を遺伝子工学的に大量生産するための遺伝子 cDNA が提供される。これらの遺伝子およびタンパク質によって、低温耐性植物の開発、糖尿病や肥満等の治療薬および治療方法の開発、植物由来の新規発熱素材の開発等が可能となる。

【0038】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> 科学技術振興事業団

<120> 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1525

<212> DNA

<213> *Symplocarpus foetidus*

<220>

<221> CDS

<222> (280)..(1188)

<221> poly A site

<221> (1271)..(1276)

<400> 1

gaggattcgc agaagaaaagg ccagaacccg attccttccc gtcttcttct cttccgccc 60  
 aattgcagtt ttgcgcagcg gcgtcatcat caagaccctc cgcccttccg cgccaaacgc 120  
 cttccacccc cacccaatcg ccctccgttt cccgaaatat tcctcttccc tcctccctt 180  
 tcttctctac ataaacccta accacccat cctctccctc cgcttccgac caccctgcat 240  
 tctactggga gcccatttga tcgaggtttc ccggcgagg atg ggc gat cac ggc 294

Met Gly Asp His Gly

	1	5		
ccg agg acc gag atc tcg ttt gcc ggc agt tcg cga gca gca ttc gcc		342		
Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser Arg Ala Ala Phe Ala				
	10	15	20	
gct tgc ttc gcc gag ctt tgc acg att ccg ttg gac act gct aaa gtt		390		
Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu Asp Thr Ala Lys Val				
	25	30	35	
agg ctt caa ctc caa aag aaa gca gta aca ggt gat gtg gtg gct ttg		438		
Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly Asp Val Val Ala Leu				
	40	45	50	
cca aaa tac agg gga atg ttg ggc act gtt gcc act att gcc agg gag		486		
Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala Thr Ile Ala Arg Glu				
	55	60	65	
gaa ggt ttg tcg gca ctc tgg aaa gga att gta ccc ggt ttg cat cgt		534		
Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu His Arg				
	70	75	80	85
caa tgc ctc ttt gga ggg cta cga att ggg ttg tat gaa cca gtt aag		582		
Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu Tyr Glu Pro Val Lys				
	90	95	100	
tcc ttt tat gtt gga gat aac ttt gtt gga gat att cct tta tcc aag		630		
Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp Ile Pro Leu Ser Lys				
	105	110	115	
aaa ata ctt gct ggg ctt aca aca ggt gca tta gca att ata gtg gca		678		
Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu Ala Ile Ile Val Ala				
	120	125	130	
aat ccc act gac ctt gtt aaa gtt cga ctt caa tct gaa ggt aaa ctc		726		
Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln Ser Glu Gly Lys Leu				
	135	140	145	
ccc cct ggg gta ccg aga cgt tat tca ggg gcg cta aat gct tat tca		774		

Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala Leu Asn Ala Tyr Ser  
 150 155 160 165  
 acc ata gtc aaa aag gaa gga ctt ggt gct ctg tgg act ggg ctt ggt 822  
 Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu Trp Thr Gly Leu Gly  
 170 175 180  
 cct aat att gcc cgc aat gct att ata aat gct gct gaa ttg gcc agt 870  
 Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala Ala Glu Leu Ala Ser  
 185 190 195  
 tat gat caa gtg aaa cag aca atc tta aaa tta cca gga ttc tca gat 918  
 Tyr Asp Gln Val Lys Gln Thr Ile Leu Lys Leu Pro Gly Phe Ser Asp  
 200 205 210  
 aat att ttt act cat att tta gcc ggt ctg ggg gca ggt ttt ttt gcc 966  
 Asn Ile Phe Thr His Ile Leu Ala Gly Leu Gly Ala Gly Phe Phe Ala  
 215 220 225  
 gtc tgt atc ggt tct cct gtt gat gtg atg aag tct aga atg atg gga 1014  
 Val Cys Ile Gly Ser Pro Val Asp Val Met Lys Ser Arg Met Met Gly  
 230 235 240 245  
 gat tca gcc tac aaa agc aca ttt gat tgt ttc atc aag aca ttg aaa 1062  
 Asp Ser Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe Ile Lys Thr Leu Lys  
 250 255 260  
 aat gat ggg ctt ctt gct ttt tac aag ggg ttt atc cca aac ttt ggt 1110  
 Asn Asp Gly Leu Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe Ile Pro Asn Phe Gly  
 265 270 275  
 cgg tta gga tcg tgg aat gtg atc atg ttt ttg acc ttg gag cag gtc 1158  
 Arg Leu Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu Thr Leu Glu Gln Val  
 280 285 290  
 aag aag ttt ttc atc aaa gag gtg cca aat taatacattg aactcggata 1208  
 Lys Lys Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn  
 295 300

ggagtagaaaa gaaagggttt ttgtgaaatt ttctctaccg gtgtggatcc tggcgagaga 1268  
 caaataaaatc ttcctgactg ctcagatgtg taccttttt atgaatggtt ctttcttat 1328  
 agaggacaga gaaaagaaaa aaaaaatcat tgtcattac tcttttccc catttctgct 1388  
 gctaattttg gtaggagaag aaaagtctta cattgagtga taacgttgtt ctctgcattcc 1448  
 attattttc agagatacta tttgacacat gaaaagtaat gcacatcagg tttttttaa 1508  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaa 1525

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 303

&lt;212&gt; PRT

<213> *Symplocarpus foetidus*

&lt;400&gt; 2

Met Gly Asp His Gly Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser

1 5 10 15

Arg Ala Ala Phe Ala Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu  
20 25 30Asp Thr Ala Lys Val Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly  
35 40 45Asp Val Val Ala Leu Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala  
50 55 60Thr Ile Ala Arg Glu Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val  
65 70 75 80Pro Gly Leu His Arg Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu  
85 90 95Tyr Glu Pro Val Lys Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp  
100 105 110Ile Pro Leu Ser Lys Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu  
115 120 125Ala Ile Ile Val Ala Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln  
130 135 140

Ser Glu Gly Lys Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Ala Tyr Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu  
 165 170 175  
 Trp Thr Gly Leu Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala  
 180 185 190  
 Ala Glu Leu Ala Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Thr Ile Leu Lys Leu  
 195 200 205  
 Pro Gly Phe Ser Asp Asn Ile Phe Thr His Ile Leu Ala Gly Leu Gly  
 210 215 220  
 Ala Gly Phe Phe Ala Val Cys Ile Gly Ser Pro Val Asp Val Met Lys  
 225 230 235 240  
 Ser Arg Met Met Gly Asp Ser Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe  
 245 250 255  
 Ile Lys Thr Leu Lys Asn Asp Gly Leu Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe  
 260 265 270  
 Ile Pro Asn Phe Gly Arg Leu Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu  
 275 280 285  
 Thr Leu Glu Gln Val Lys Lys Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn  
 290 295 300

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 2991

&lt;212&gt; DNA

<213> *Symplocarpus foetidus*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (286)..(1089)

&lt;221&gt; poly A site

&lt;222&gt; (1171) (1176)

&lt;221&gt; poly A site

&lt;222&gt; (1243) (1248)

&lt;400&gt; 3

tgggtgtgac gagtgacgag gattcgacaga agaaaggcca gaacccgatt cttcccggtc 60  
 ttcttccttccat tccgccccat tgcagttttt cgcagcgggt catcatcaag accctccgcc 120  
 ttccgcgc aaacgccttc cacccaatcc ctccgtttcc cgaaatattc cccttccctc 180  
 cctttcttc tctacataaa ccctaaccac cccatcctc tcccccgt tccgaccacc 240  
 ctgcattcta ctggatccc atttgatcga cgttccgg cgagg atg ggc gat cac 297

Met Gly Asp His

1

ggc ccg agg acc gag atc tcg ttt gcc ggc agt tcg cga gca gca ttc 345

Gly Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser Arg Ala Ala Phe

5

10

15

20

gcc gct tgc ttc gcc gag ctc tgt acg att ccg ttg gac act gct aaa 393

Ala Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu Asp Thr Ala Lys

25

30

35

gtt agg ctt cag ctc caa aag aaa gca gta aca ggt gat gtg gtg gct 441

Val Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly Asp Val Val Ala

40

45

50

ttg cca aaa tac agg gga atg ttg ggc act gtt gcc act att gcc agg 489

Leu Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala Thr Ile Ala Arg

55

60

65

gag gaa ggt ttg tcg gca ctc tgg aaa gga att gta ccc ggt ttg cat 537

Glu Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu His

70

75

80

cgt caa tgc ctc ttt gga ggg cta cga att ggg ttg tat gaa cca gtt 585

Arg Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu Tyr Glu Pro Val

85

90

95

100

aag tcc ttt tat gtt gga gat aac ttt gtt gga gat att cct tta tcc 633

Lys Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp Ile Pro Leu Ser  
 105 110 115  
 aag aaa ata ctt gct ggg ctt aca aca ggt gca tta gca att ata gtg 681  
 Lys Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu Ala Ile Ile Val  
 120 125 130  
 gca aat ccg act gac ctt gtt aaa gtt cga ctt caa tct gaa ggt aaa 729  
 Ala Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln Ser Glu Gly Lys  
 135 140 145  
 ctc ccc cct ggg gta cca aga cgt tat tca ggg gcg cta aat gct tat 777  
 Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala Leu Asn Ala Tyr  
 150 155 160  
 tca acc ata gtc aaa aag gaa gga ctt ggt gct ctg tgg act ggg ctt 825  
 Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu Trp Thr Gly Leu  
 165 170 175 180  
 ggt cct aat att gcc cgc aat gct att ata aat gct gct gaa ttg gcc 873  
 Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala Ala Glu Leu Ala  
 185 190 195  
 agt tat gat caa gtg aaa cag atg aag tct aga atg atg gga gat tca 921  
 Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Met Lys Ser Arg Met Met Gly Asp Ser  
 200 205 210  
 gcc tac aaa agc aca ttt gat tgt ttc atc aag acg ttg aaa aat gat 969  
 Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe Ile Lys Thr Leu Lys Asn Asp  
 215 220 225  
 ggg cct ctt gct ttt tac aag ggg ttt atc cca aac ttt ggt cgg tta 1017  
 Gly Pro Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe Ile Pro Asn Phe Gly Arg Leu  
 230 235 240  
 gga tcg tgg aat gtg atc atg ttt ttg acc ttg gag cag gtc aag aag 1065  
 Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu Thr Leu Glu Gln Val Lys Lys  
 245 250 255 260

ttc ttc atc aaa gag gtg cca aat taatacattg aagtcggata ggagtagaaa 1119

Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn

265

aaaagggttt ttgttggatt ttctctaccg gtgtggatcc tggcgagaga gaataaatct 1179

tcctgactgc tcagatgttg taccttttt atgaatggtt cttttcttat agaggacaga 1239

gaaaataaaaa gaaaaattca ttgtcatgta ctcttttcc ccatttctgc tgagtagcag 1299

ctataccaag cagactttgt tgcttggctg ctgctaattct ttagtgcgaa gaaaagtcgt 1359

acattgagtg ataacgttgt tctctgcattc cattattttt cagagtact atttgacaca 1419

tgaaaagttt tttttttttt tttttttttt aacaggcagc aaatagagga atcgatctca 1479

cgactatcct ctttattcat taacaggcat acaaacttag ggagagcatg cagggtat 1539

atcaaaatat accctttat tagacattt gcgtacacag ttggccctca aacgactgta 1599

tcttagcagcc aattttttaga ccacattaag acagagagaa acaagcagaa gaacagggta 1659

ccatacatac ataggtaata attaagatga tgaacatagc ataggttcat gatctacttc 1719

ttcttcacgt acacatgttg caccagctga atggaaatct tggtcaccat atggcatgaa 1779

agtacgtcat gtgcagacgt tatatagtgt tcttcttacc attcagcagc agcaccagag 1839

gcatcaaaca ctgggtctt gacagggtat gagggtaca ttgcgtatccc acacatgccc 1899

tagggagtca cattgcgttt gattttatg tatccagcct gtccccaccc agtccccat 1959

gagttcctta caagccaata atccttccca tcctccgaac catatcctat tatcaccaca 2019

gcatggtcga tacgttgacc acatggtcca gcaaatacgc ccgagggtgt gtgttggat 2079

ccagcgcccg aagcctcaag agcaacactg acaggttgct ttgcgtactgc atactgttagg 2139

ctaaccctcg tgcgtggaga aacatttca tacgcattaa tcgagggtgac ttaataaga 2199

tttgctctgc aagttcctcg acgtcctgtg tacggtaat tttgaaaaaa aggagaagg 2259

cgggaagaag cgccgcgtctc tgctcgac gggtaattt ttcataatggc cacttcgagc 2319

atggcttcgg cagcctccag cttcggtctc actccggcct cccctccacc accacgccc 2379

ttcccccgtc cgccctctt cccagggtcg caggaggctc gtgggtgtc gggccgagga 2439

agccgcgacg acccccgcgg ccggcgccgg cggaggggagc cgccgcgcgg ccccaagcc 2499

gccaccgatc gggcccaaga gggggtaaaa ggttgatata tagttcttaa ttctttccc 2559

gtgtggcttc tggagttaga ttgtttctt ctctctttt ttgtttgt ttttcaatt 2619

taaattttat tctcatctgt ggacgacctt ccatgggtt ttgcgtccct ctcgcagggt 2679

aagatctccg gaaggaatcc tactggtca acgggtcggtcgg atcgggtggc gctgttgatc 2739  
 aggatccggc gactcgatac ccgggtcggtgg ttccgggtcac caaggtaac tatgcgaacg 2799  
 tctcgaccaa caactacgca ctggacgaga tcctggaggt gaaatgaggg tcggcggcgc 2859  
 tggtcggtgcg ggcattgtcac gatgatgtat ttccgcagtt ggtatgtaa aataccatgt 2919  
 cattcgtgta aaactcttc gttcgccaaa tcctcagttt aaatttaat tcccagccag 2979  
 taaaaaaaaa aa 2991

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 268

&lt;212&gt; PRT

<213> *Symplocarpus foetidus*

&lt;400&gt; 4

Met Gly Asp His Gly Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

Arg Ala Ala Phe Ala Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu

20	25	30
----	----	----

Asp Thr Ala Lys Val Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly

35	40	45
----	----	----

Asp Val Val Ala Leu Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala

50	55	60
----	----	----

Thr Ile Ala Arg Glu Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val

65	70	75	80
----	----	----	----

Pro Gly Leu His Arg Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu

85	90	95
----	----	----

Tyr Glu Pro Val Lys Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp

100	105	110
-----	-----	-----

Ile Pro Leu Ser Lys Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu

115	120	125
-----	-----	-----

Ala Ile Ile Val Ala Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln

130	135	140
-----	-----	-----

Ser Glu Gly Lys Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Ala Tyr Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu  
 165 170 175  
 Trp Thr Gly Leu Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala  
 180 185 190  
 Ala Glu Leu Ala Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Met Lys Ser Arg Met  
 195 200 205  
 Met Gly Asp Ser Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe Ile Lys Thr  
 210 215 220  
 Leu Lys Asn Asp Gly Pro Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe Ile Pro Asn  
 225 230 235 240  
 Phe Gly Arg Leu Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu Thr Leu Glu  
 245 250 255  
 Gln Val Lys Lys Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn  
 260 265

## 【図面の簡単な説明】

## 【図1】

ザゼンソウの肉穂花序の温度と気温の経時的变化を示したグラフである。

## 【図2】

室温 (RT) および冷却条件 (4 °C、3日間) での、ザゼンソウの肉穂花序および葉における SfUCP a (A) および SfUCP b (B) 転写産物の発現プロファイルを示したノーザンブロッティングの結果である。各々の下側の図は、未分解の rRNA をエチジームプロマイド染色した結果である。

## 【図3】

SfUCP A および SfUCP B と、既存のジャガイモUCP (StUCP)、シロイヌナズナUCP (AtPUMP) およびヒトUCP のアミノ酸配列比較図である。配列下段の星記号 (\*) は同一アミノ酸残基を示し、点記号 (.) は全ての配列内での保存的な変化を表す。太字は、SfUCP A と SfUCP B との同

一配列を示す。配列アラインメントを最適化するために導入したギャップをダッシュ記号（-）で示す。アラインメントは、CLUSTAL Wプログラムを用いて行った。典型的なミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質の特徴的ドメインを四角で囲む。配列上段の斜線横軸（I～VI）は予測される膜貫通ドメインを示す。

【図4】

SfUCAの疎水性プロットである。縦軸は疎水性の程度を示し、予想される膜貫通ドメインをTM1からTM6で示した。

【図5】

ミトコンドリア膜内におけるSfUCAのトポロジーの模式図である。

【図6】

SfUCBの疎水性プロットである。縦軸は疎水性の程度を示し、予想される膜貫通ドメインをTM1からTM4およびTM6で示した。

【図7】

ミトコンドリア膜内におけるSfUCBのトポロジーの模式図である。

【図8】

遺伝子SfUCPaおよびSfUCPbの各々のcDNAを鑄型とするインビトロ翻訳の結果である。（-）はコントロール、SはセンスRNA、ASはアンチセンスRNAを示す。星印記号（\*）は非特異的産物であり、白丸は小さなORFによって合成された低分子量の翻訳人工産物の位置を示す。

【参考文献】

Berthold and Siedow (1993) *Plant Physiol.* 101, 113-119.

Boss et al. (1997) *FEBS Lett.* 408, 39-42.

Fleury et al. (1997) *Nature Genetics* 15, 269-272.

Ito, K. et al. (1999) *Plant Sci.* 142, 57-65.

Ito, K. et al. (1994) *Nucl. Acids Res.* 22, 2036-2041.

Ito, Y. et al. (1997) *Gene* 12, 121-129.

Jezek et al. (1998) *Biochem. Biophys. Acta* 1365, 319-327.

Katiyar and Shrager (1989) *Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2559-2562.

Klaus et al. (1991) *Int. J. Biochem.* 23, 791-810.

Klingenberg and Winkler (1985) EMBO J. 4, 3087-3092.

Knutson (1974) Science 186, 746-747.

Laloi et al. (1997) Nature 389, 135-136.

Levitt (1980) Responses of plants to environmental stresses. 2nd edn. New York: Academic Press

Lin and Klingenberg (1982) Biochemistry 21, 2950-2956.

Liu et al. (1988) J. Cell. Biol. 107, 503-509.

Maia et al. (1998) FEBS Lett. 429, 403-406.

McIntosh (1994) Plant Physiol. 105, 781-786.

Nagy et al. (1972) Science 178, 1195-1197.

Nicholls and Locke (1984) Physiol. Rev. 64, 1-64.

Rial et al. (1983) Eur. J. Biochem. 137, 197-203.

Ricquier et al. (1991) FASEB J. 5, 2237-2242.

Sakai and Larcher (1987) Frost Survival of Plants: Responses and Adaptations to Freezing Stresses. Berlin and New York: Springer-Verlag.

Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd eds, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schneider and Buchanan (1980) Amer. J. Bot. 67, 182-193.

Sluse et al. (1998) FEBS Lett. 433, 237-240.

Steponkus (1984) Annu. Rev. Plant Physiol. 35, 543-581.

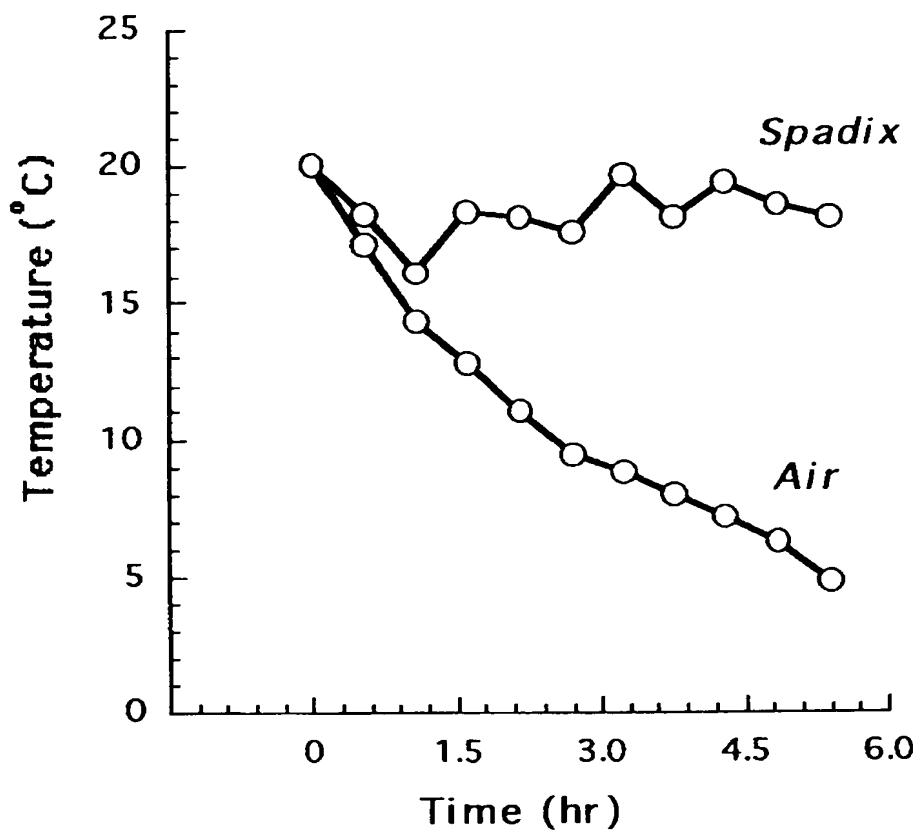
Thomashow (1998) Plant Physiol. 118, 1-7.

Uemura and Steponkus (1997) Plant Cold Hardiness: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology (Li and Chen, edn). New York: Plenum Press, pp. 171-179.

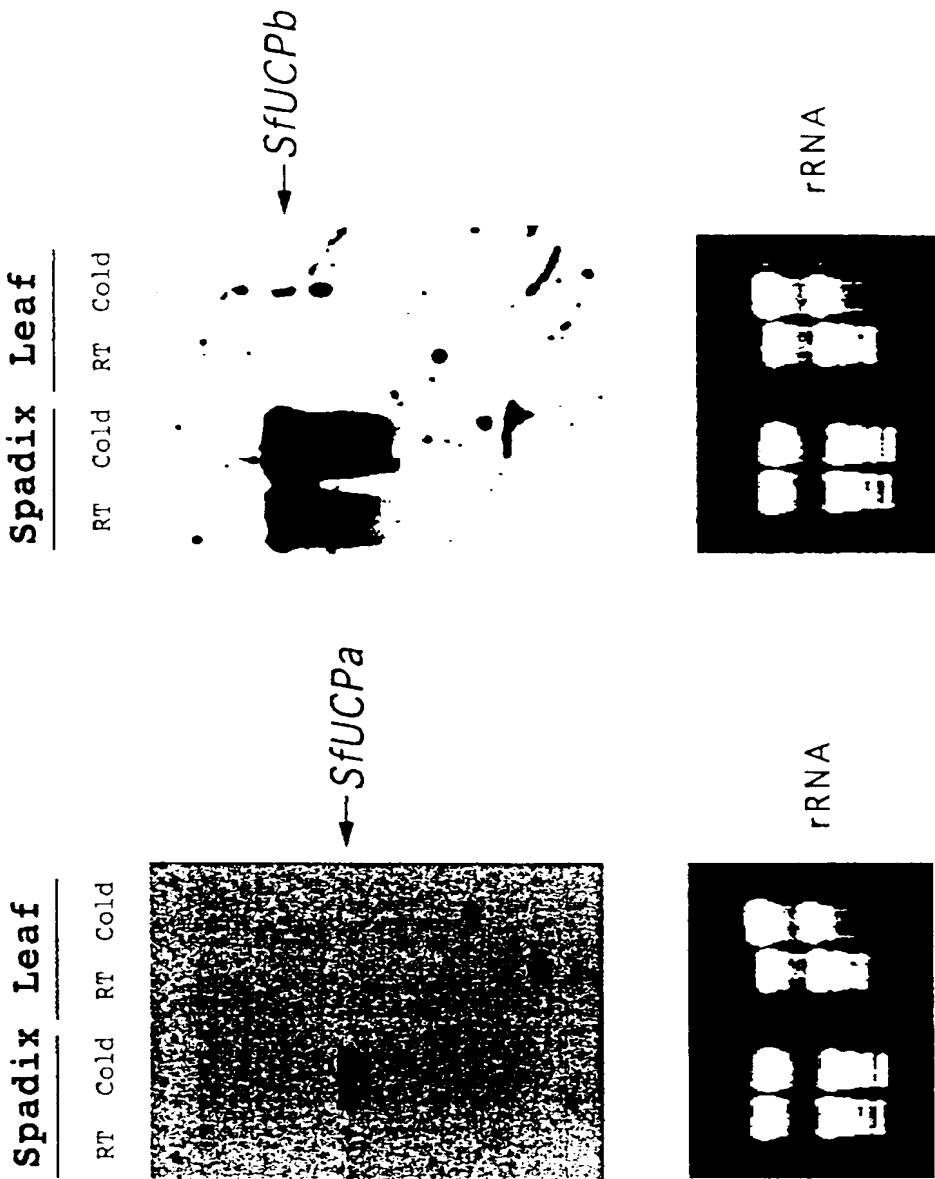
Wagner and Krab (1995) Physiol. Plant. 95, 318-325.

【書類名】 図面

【図1】



【図2】



【図3】

## I

SfUCPA	1	--MGDEGPRTEISFAGSSR-AAFAACFAELCTIPLDTAVRVLQLQKKAVTGDV-VALPKY	56
SfUCPB	1	--MGDEGPRTEISFAGSSR-AAFAACFAELCTIPLDTAVRVLQLQKKAVTGDV-VALPKY	56
StUCP	1	MGGGDEGGKSDISFAGGIAFAACVFAEACTIPLDTAKVRLQLQKKAVEGDG-LALPKY	59
AtPUMP	1	--MVAAGKSDLSLPKTFACSAFAACVGEVCTIPLDTAKVRLQLQKSAFTLAGDVTLKY	57
human UCP1	1	-MGGLTASDVHPTLGVQLFSAPIAACLADVITEPLDTAKVRLQVQGECP---TSSVIRY	55
human UCP2	1	-MVGFRATDVPPATVKFLGAGTAACIADLITEPLDTAKVRLQIQGESQGPVRATASAQY	59
human UCP3	1	-MVGLKPSDVPPTMASKFLGAGTAACFADLVTPLDTAKVRLQIQGENQ-AVQATARLQY	58

\*\*\*\*\*

## II

SfUCPA	57	RGMLGTVATIAREEGLSALWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGLYEPVKSFYVG--DNFVGDI	114
SfUCPB	57	RGMLGTVATIAREEGLSALWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGLYEPVKSFYVG--DNFVGDI	114
StUCP	60	RGLLGTVGTLAKEEGIASLWKGIVPGLHRQCIYGLIGRIGMYEPVKNLYVG--KDHVGDV	117
AtPUMP	58	RGLLGTVGTLAKEEGLRLWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGLYEPVKNLYVFTGKDFVGDV	117
human UCP1	56	KGVLTITAVVKTEGRMKLYSGIPAGLQRQISSASLRIGLYDTVQEFLTA---GKETAPS	112
human UCP2	60	RGVMGTTILMVRTEGPRSLYNGLVALQRQMSFASAVRIGLYDSVQFYT---KGSEHAS	115
human UCP3	59	RGVLGTTILMVRTEGPCSPYNGLVALQRQMSFASIRIGLYDSVQFYT---KGADNSS	115

\*\*\*\*\*

## III

SfUCPA	115	LSKKILAGLTTGALAIIVANPTDLVVKRVLQSEGKLPAG-VPRRYSGALNAY--STIVKKE	171
SfUCPB	115	LSKKILAGLTTGALAIIVANPTDLVVKRVLQSEGKLPAG-VPRRYSGALNAY--STIVKKE	171
StUCP	118	LSKKILALTTGALGITIANPTDLVVKRVLQAEGLKLPAG-VPRRYSGALNAY--STIVKQE	174
AtPUMP	118	LSKKILAGLTTGALGIMVANPTDLVVKRVLQAEGLKLAAG-APRRYSGALNAYFTSTIVRQE	176
human UCP1	113	LGSKILAGLTTGGAVF1GQTEVVVKRVLQASHLHG--IKPRYGTYNAY--RIIATTE	168
human UCP2	116	IGSRLILAGTTGALAVAVAQPTDVKVKRVLQAQARAG--GGRRYQSTVNAY--KTIAREE	170
human UCP3	116	LTTRILAGCTTGAMAVTCAGPTDVKVKRVLQASIHGPSRSDRKYSGTMAY--RTIAREE	173

\*\*\*\*\*

## IV

## V

SfUCPA	172	GLGALWTGLCPNIARNAIINAAELASIDQVKQTILKLPGFSDNIFTHILAG--LGAGFFA	229
SfUCPB	172	GLGALWTGLCPNIARNAIINAAELASIDQVKQ--	203
StUCP	175	GVRALWTGLCPNIGRNAIINAAELASIDQVKRKEAVLIPGFTDNVVTTHILAG--LGAGFFA	232
AtPUMP	177	GVRALWTGLCPNVARNAIINAAELASIDQVKETILKIPGFTDNVVTTHILSGLFTGAGFFA	236
human UCP1	169	GLTGLWKGTTPNLMRSVILNCTELVTYDLMKEAVFKNNIADDVPCHLVSA--LIAGFCA	226
human UCP2	171	GFRGLWKGTSPPNVARNAIVNCALVTTYDILKDALLKANLMTDDLPCHFTSA--FGAGFCT	228
human UCP3	174	GVRLWKGTLPNIMRNNAIVNCALVTTYDILKEKLTDYHLLTDNFCHFVSA--FGAGFCA	231

\*\*\*\*\*

## VI

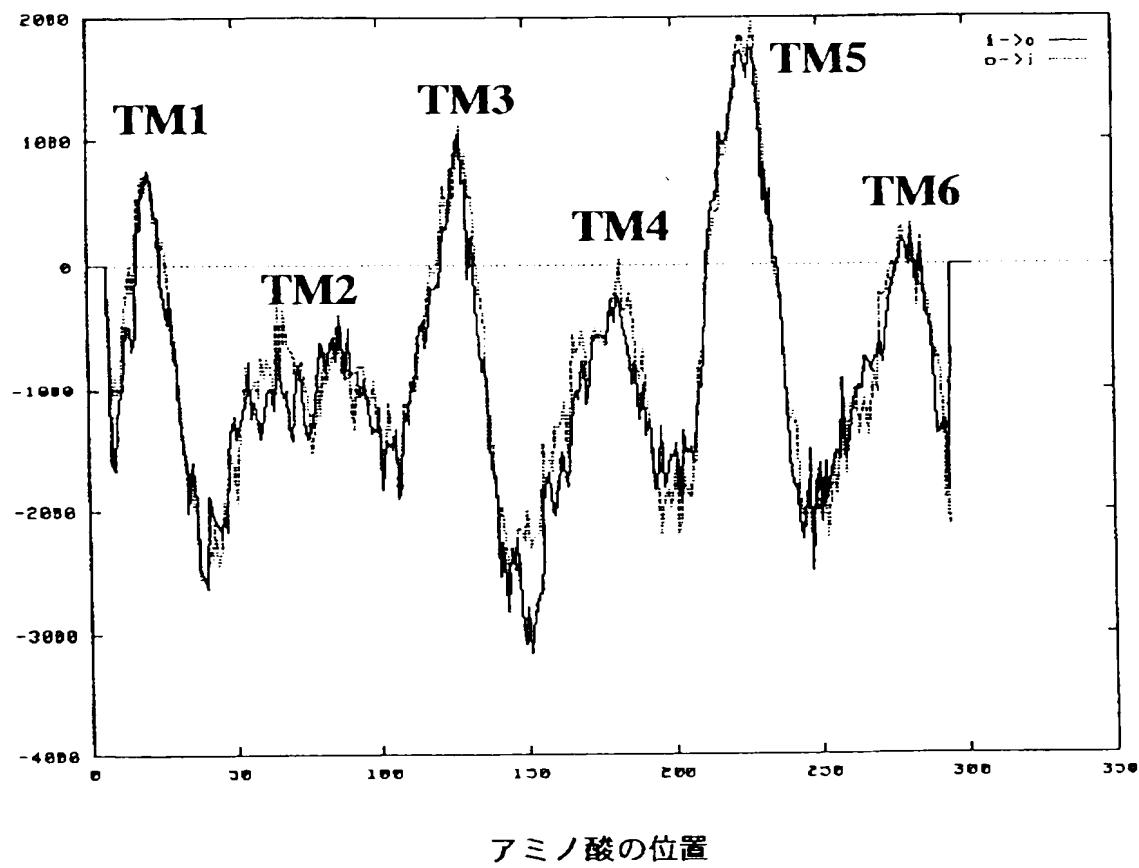
SfUCPA	230	VCIGSPVUVMSRIMGDS--AYKSTIFDCFIKTLRNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	285
SfUCPB	204	---MKSRAIMGDS--AYKSTIFDCFIKTLRNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	250
StUCP	233	VCIGSPVUVVKSRIMGDS--AYKNTIDCFVKTLRNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	288
AtPUMP	237	VCIGSPVUVVKSRIMGDS--AYKGTIDCFVKTLRNDGLLAFYKGFIPNFGRLGFTWNV	295
human UCP1	227	TAMSSPVDVVKTRIINSPPGQYKSVNPNCAKVFNEGPTAFFKGLVPSFLRLG--SWNVI	284
human UCP2	229	TVIASPVDVVKTRIMNSALGQYSSAGHCALTMQKEGPRAFYKGFMPFLRLG--SWNVV	286
human UCP3	232	TVVASPVDVVKTRIMNSPPGQYFSPLDCMIKMVAQEGPTAFYKGFMPFLRLG--SWNVV	289

## PNBD

SfUCPA	286	MFLTLEQVKQFFIKEVPN-----303	
SfUCPB	251	MFLTLEQVKQFFIKEVPN-----268	
StUCP	289	MFLTLEQAKKFVKSLESP-----306	
AtPUMP	296	MFLTLEQAKKYVRELDASKRN--316	
human UCP1	285	MFVCFEQLKRELSKSRQTMDCAT	307
human UCP2	289	MFVTYEQLKRALMACTSREAPP	309
human UCP3	290	MFVTYEQLKRALMKVQMLRESPF	312

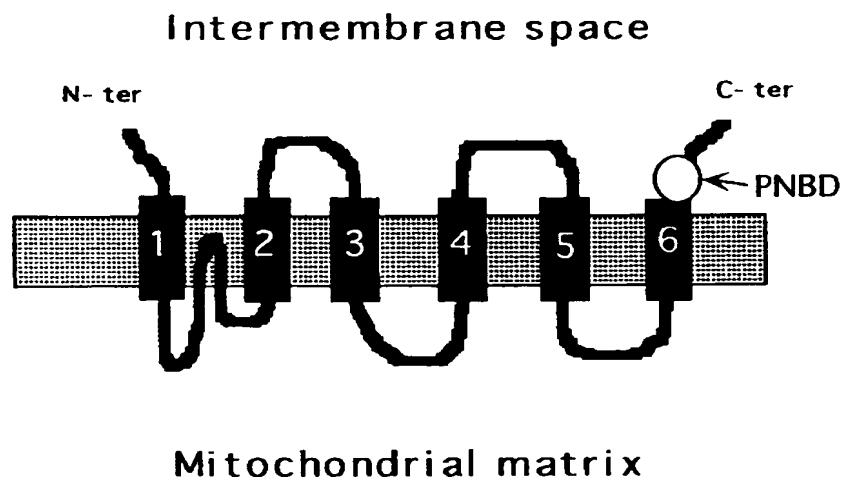
\*\*\*\*\*

【図4】

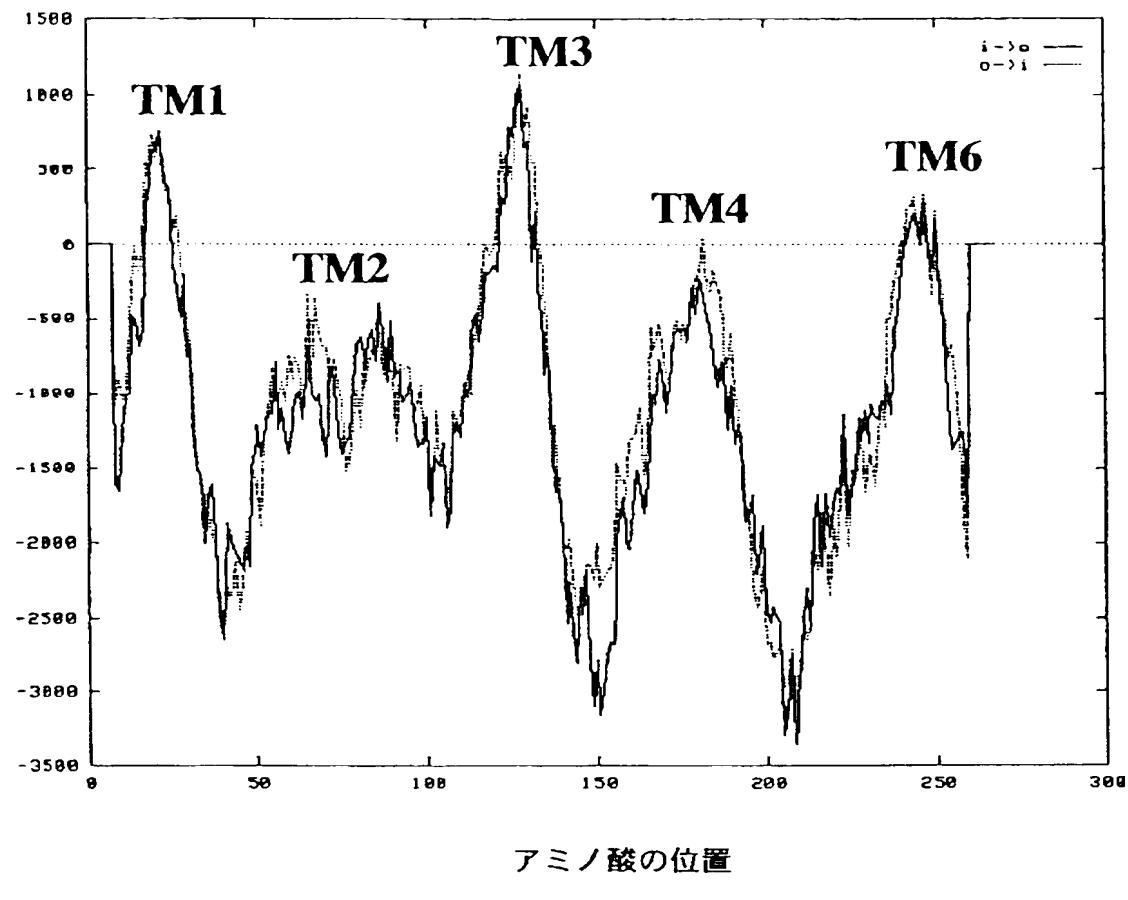


アミノ酸の位置

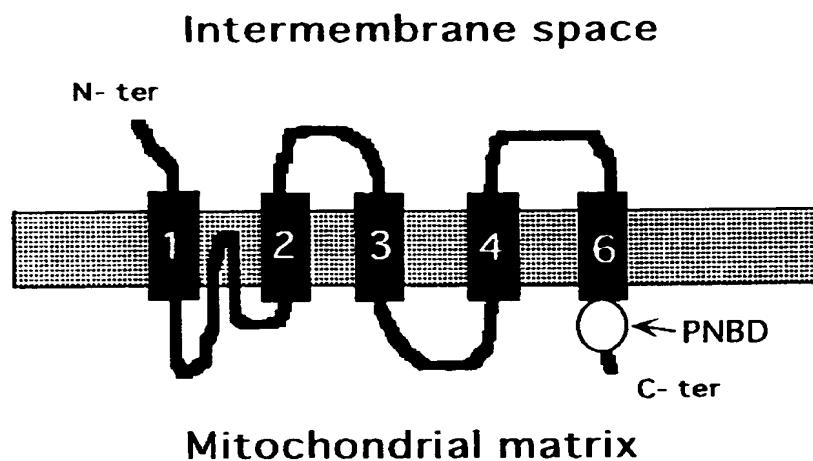
【図5】



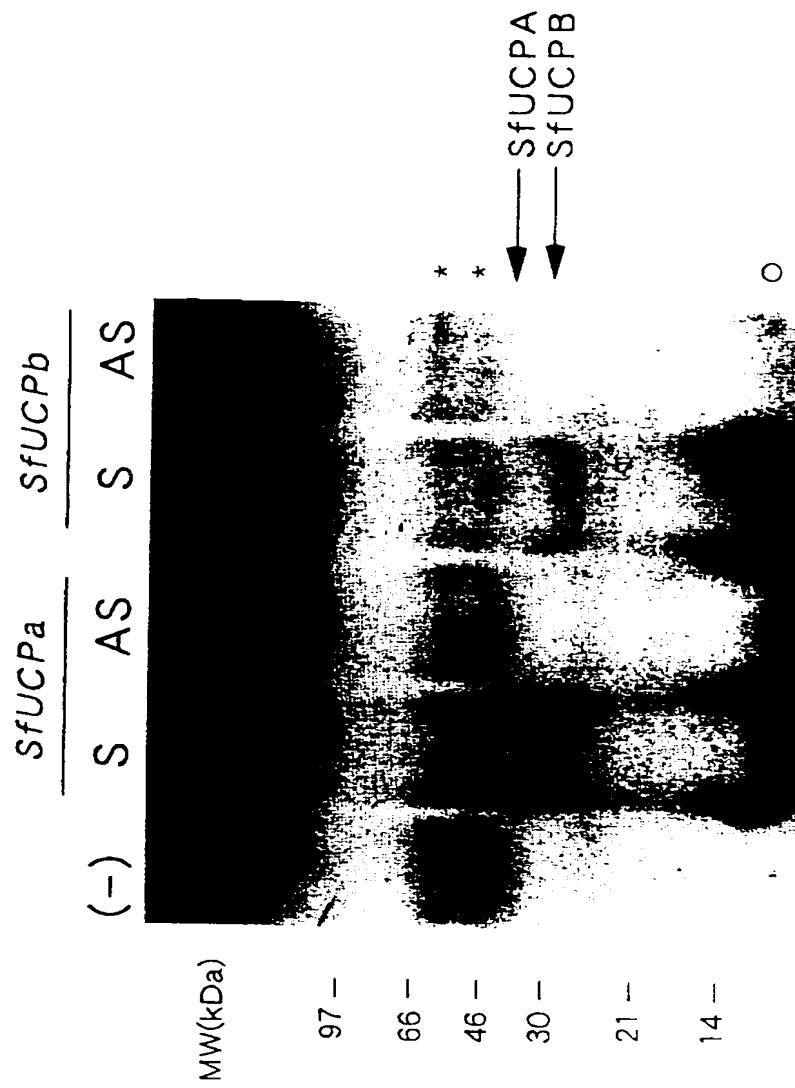
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 热発生植物であるザゼンソウ由来の新規発熱関連遺伝子と、この遺伝子産物である発熱関連タンパク質、並びにこのタンパク質を遺伝子工学的に大量生産するための遺伝子 cDNA を提供する。

【解決手段】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、その cDNA が配列番号 1 および 3 の塩基配列をそれぞれ有することを特徴とする遺伝子 SfUCP<sub>a</sub> および SfUCP<sub>b</sub>、これら遺伝子が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号 2 および 4 のアミノ酸配列をそれぞれ有することを特徴とするタンパク質 SfUCPA および SfUCPB、ならびに前記遺伝子の各々の cDNA。

【選択図】 なし

出願人履歴情報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日 1998年 2月24日

[変更理由] 名称変更

住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名 科学技術振興事業団